

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59-198982

⑨ Int. Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和59年(1984)11月10日

C 12 P 1/06

6760-4B

C 07 G 11/00

6956-4H

// A 61 K 35/74

A D Z

7138-4C

発明の数 2

(C 12 P 1/06

審査請求 未請求

C 12 R 1/01 )

(全 10 頁)

⑭ 新抗生物質 SF-2240 物質およびその製造法

東京都世田谷区三軒茶屋 1-12  
-16

⑮ 特 願 昭58-73886

⑯ 発 明 者 丹羽富造

⑮ 出 願 昭58(1983)4月28日

横浜市港北区日吉本町920

⑯ 発 明 者 大場和則

⑯ 発 明 者 伊藤辰男

横浜市港北区大豆戸町931-1

伊勢原市高森1598の5

⑯ 発 明 者 庄村喬

⑰ 出 願 人 明治製菓株式会社

横浜市鶴見区駒岡町203

東京都中央区京橋2丁目4番16  
号

⑯ 発 明 者 岡野一男

⑱ 代 理 人 弁理士 久保田藤郎

前橋市南町2-40-21

⑯ 発 明 者 瀬崎正次

明 細 書

1. 発明の名称

新抗生物質 SF-2240 物質およびその製造法

2. 特許請求の範囲

1) 下記の特性を有する新抗生物質 SF-2240 物質およびその酸付加塩。

元素組成として重量比で炭素 53.13%, 水素 6.15%, 窒素 16.26%, 酸素 24.75% を含み、質量分析 (FD-MS) から分子量は 591 で、分子式は  $C_{26}H_{37}N_7O_9$  であり、水溶液中での紫外吸収スペクトルは第 1 図に示すように 243 nm, 249 nm, 260 nm (肩), 303 nm に極大吸収を有し、第 2 図に示すような赤外部吸収スペクトルを示し、外観は白色粉末であり、水、メタノール、エタノールに可溶で、ベンゼン、酢酸エチル、ヘキサン等の有機溶媒に難溶であり、シリカゲル薄層クロマトグラムの R<sub>f</sub> 値は展開溶媒 n-プロパノール-ピリジン-酢酸-水 (15:10:3:12) で 0.75 であり、n-ブタノール-メ

タノール-水 (4:1:2) で 0.19 を示し、レミュー、硫酸、ニンヒドリン、グレイク-リーバック試薬は陽性、坂口反応は陰性であり、水溶液中での比旋光度が  $[\alpha]_D^{25} = +16.3^\circ (C1, H_2O)$  であり、pH 6.4 ピリジン-酢酸緩衝液を用いた高電圧紙電気泳動 (3000 V, 15 分間) は陰極側に 5.2 cm 泳動し、その R<sub>m</sub> (リジン) は 0.53 で、塩基性の物質であり、第 3 図で実質的に代表される水素核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、第 4 図で実質的に代表される炭素核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、安定性は中性からアルカリ性にかけて比較的安定であるが、酸性で不安定な水溶性塩基性である。

2) ミクロビスポーラ属に属し、下記の特徴を有する新抗生物質 SF-2240 物質

元素組成として重量比で炭素 53.13%, 水素 6.15%, 窒素 16.26%, 酸素 24.75% を含み、質量分析 (FD-MS) から分子量は 591 で、分子式は  $C_{20}H_{37}N_7O_9$  であり、水溶液中での紫外吸収スペクトルは第 1 図に示すように 243 nm, 249 nm, 260 nm (肩), 303 nm に極大吸収を有し、第 2 図に示すような赤外部吸収スペクトルを示し、外観は白色粉末であり、水、メタノール、エタノールに可溶で、ベンゼン、酢酸エチル、ヘキサン等の有機溶媒に難溶であり、シリカゲル薄層クロマトグラムの Rf 値は展開溶媒 n-プロパノール-ピリジン-酢酸-水 (15:10:3:12) で 0.75 であり、n-ブタノール-メタノール-水 (4:1:2) で 0.19 を示し、レミュー、硫酸、ニンヒドリン、グレイク-リーバック試薬は陽性、坂口反応は陰性であり、水溶液中での比旋光度が  $[\alpha]_D^{20} = -116.3^\circ$  (C1,  $H_2O$ ) であり、pH 6.4 ピリジン-酢酸緩衝液を用

いた高電圧紙電気泳動 (3000 V, 15 分間) は陰極側に 5.2 cm 泳動し、その Rm (リジン) は 0.53 で、塩基性の物質であり、第 3 図で実質的に代表される水素核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、第 4 図で実質的に代表される炭素核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、安定性は中性からアルカリ性にかけて比較的安定である。

力<sup>(主成分)</sup>を有する微生物を培養し、その培養物から上記 SF-2240 物質を採取することと特徴とする新抗生物質 SF-2240 物質の製造法。

3) ミクロビスポーラ属に属し、新抗生物質 SF-2240 物質を生産する能力を有する微生物がミクロビスポーラ・エスピー SF-2240 (FERM P-6952) である特許請求の範囲第 2 項記載の方法。



### 3. 発明の詳細な説明

本発明は新抗生物質 SF-2240 物質およびその製造法に関する。更に詳しく述べれば、放線菌を培養して得られる新抗生物質 SF-2240 物質およびその製造法に関するものである。

本発明者らは種々のグラム陽性菌およびグラム陰性菌に抗菌活性を有する新規かつ有用な抗生物質を探索した結果、ミクロビスポーラ属に属する放線菌を栄養培地中に培養することによつて新抗生物質 SF-2240 物質が生産されることを見出し、該 SF-2240 物質を単離し、その理化学的性状、生物学的性状を確定することにより本発明を完成させた。

新規抗生物質 SF-2240 物質の生産菌の一例としては、本発明者らにより岐阜県飛騨高山の土壌より新たに分離されたミクロビスポーラ属に属する放線菌 SF-2240 株がある。

SF-2240 株の菌学的性状は下記の通りである。

#### I 形態的性質

蒸生菌糸はよく伸長分枝し、その直径は約 0.5  $\mu m$  である。寒天培地および液体培地のいずれにおいても蒸生菌糸の分断は通常観察されない。

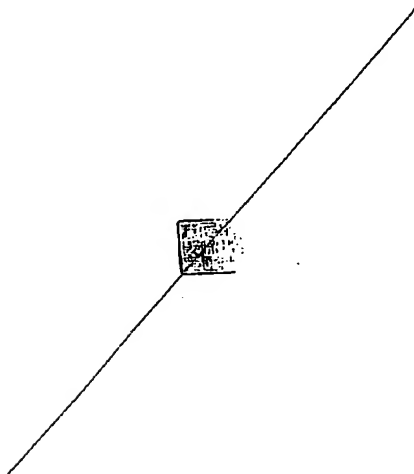
気菌糸はスターチ寒天、オートミール寒天、チロシン寒天、リンゴ酸カルシウム寒天等で比較的よく着生し、初め白色であるが、胞子形成とともに緑色を帯びてくる。気菌糸の分枝は単純分枝である。胞子は気菌糸上の各所に直接あるいは短かい柄を介して 2 個ずつペアで形成される。まれに 3 個の連鎖も観察される。胞子のう、鞭毛胞子、菌核は認められない。

電子顕微鏡で観察すると、胞子は主に楕円型で 0.6 ~ 0.8  $\times$  0.9 ~ 1.6  $\mu m$  の大きさを有し、表面は円滑である。

#### II 各種培地上での生育状態

SF-2240 株の各種培地上での生育状態は次表に示す通りである。色の記載について ( ) 内に示す標準はコンテナ・コーポレーション・オブ・アメリカ (Container Corporation of

America) 社製の「カラー・ハーモニー・マニュアル (Color Harmony Manual)」に記載のものを引用した。観察は 28℃ で 14～21 日培養後に行った。



- 7 -

### III 生理的性質

- (1) 生育温度範囲：スターチ寒天において 15～42℃ の温度範囲で生育し、28～37℃ が最適温度である。
  - (2) ゼラチンの液化：陽性 (24℃, 14 日培養)
  - (3) スターチの加水分解：陽性 (28℃, 14 日培養)
  - (4) 硝酸塩の還元：陰性 (28℃, 14 日培養)
  - (5) 脱脂乳のペプトン化：陽性 (37℃, 14 日培養) 脱脂乳の凝固：陽性 (37℃, 14 日培養)
  - (6) 耐塩性：食塩 4% では生育するが、5% では生育しない。
  - (7) メラニン様色素の生成：陰性
- IV 炭素源の利用性 (プリドハム・ゴットリーブ寒天培地)
- (1) 利用するもの：D-グルコース, D-マンニトール, L-ラムノース
  - (2) 利用が疑わしいもの：D-フラクトース,

- 9 -

### 特開昭59-198982 (3)

培地	発育 (色は裏面)	気菌糸	可溶性色素
シュクロース・硝酸塩寒天	普通, 無色から次第にうすいあんず色 (4 ea)	貧弱, 白色	なし
グルコース・アスパラギン寒天	微弱, 無色	なし	なし
グリセロール・アスパラギン寒天	微弱, 無色	貧弱, 白色	なし
スターチ寒天	普通～良好, 黄褐色 (2 fb)～うすいあんず色 (4 ea)	炭緑色 (24 1/2 i ~ 23 ie)	なし
オートミール寒天	普通, パステルネエロー (1 db)～うすいあんず色 (4 ea)	灰緑色 (24 g ~ 24 1/2 dc)	なし
イースト麦芽寒天	良好, 黄褐色 (2 ne ~ 3 ic)	貧弱, 白色	なし
チロシン寒天	普通, 炭褐色 (2 g ~ 3 dg)	青緑色 (21 i g ~ 24 ih)	なし
栄養寒天	普通, 黄褐色 (2 fb)	なし	なし
ベネクト寒天	普通, 黄褐色 (2 fb)～暗オレンジ色 (4 bc)	なし	なし
リンゴ酸・カルシウム寒天	微弱, 無色	緑色 (24 bi)	なし

- 8 -

L-アラビノース, シュクロース

- (3) 利用しないもの：ラフィノース, i-イノシトール, D-キシロース

### V 細胞壁組成

ベフカー (Becker) らの方法 (Applied Microbiology 13 巻, 236 頁, 1965 年) により分析した結果、細胞壁組成成分中のジアミノピメリン酸はメソ型であった。

以上より、SF-2240 株は気菌糸に胞子を 2 個ずつペアーで形成する放線菌であり、細胞壁組成などからミクロビスポーラ (*Microbispora*) 属に分類される。

これまで報告されたミクロビスポーラ属の菌種には緑色の気菌糸を着生するものはない。したがって、SF-2240 株はミクロビスポーラ属の新菌種と思われる。

本発明者らは SF-2259 株をミクロビスポーラ・エスピー・SF-2240 (*Microbispora* sp. SF-2240) と称することにした。

本菌は工業技術院微生物工業技術研究所に受託

- 10 -

されており、その受託番号は第6952号(FERM P-6952)である。

SF-2240株は他の放線菌の多くの菌株の場合にみられるようにその性質が変化しやすく、例えば紫外線、エックス線、放射線、薬品等を用いる人工的変異手段で変異しうるものであるが、いずれの変異株であつてもSF-2240物質の生産能を有するマイクロスピラ属の菌株はすべて本発明の方法に使用することができる。

本発明の方法では、前記菌株を通常の微生物が利用しうる栄養物を含有する培地で培養する。栄養源としては従来、放線菌の培養に利用されている公知のものが使用できる。例えば炭素源としてグルコース、グリセロール、澱粉、デキストリン、水あめ、糖みつ、植物油、動物油等が使用できる。また、窒素源としては大豆粉、小粟胚芽、肉エキス、ペプトン、酵母、コーンステイプリカー、綿実かす、魚粉、硫酸、硝酸ソーダ、尿素等を使用しうる。その他、必要に応じて炭酸カルシウム、食塩、塩化コバルト、磷酸塩等の無機塩類を添加

- 11 -

塩基性物質である。これを培養物より採取するに当つてその抽出精製にはアンバーライトXAD-2、ダイヤイオンHP-20等の合成吸着剤；アンバーライトIRC-50、CM-セファデックス等の陽イオン交換樹脂；セファデックスLH-20等のゲル濾過剤等によるクロマトグラフィーが使用されるが、以下による採取方法が効率的である。すなわち、培養液より菌体その他の固型物をけいそう土等の濾過助剤を用いて濾別し、次いで濾液中の有効成分をダイヤイオンHP-20に吸着させる。樹脂部を水洗後、50%アセトン水で溶出させる。この溶出液を減圧濃縮し、アセトンを除去する。これをさらにアンバーライトIRC-50(H<sup>+</sup>)、CM-セファデックス(Na<sup>+</sup>)、トヨパールHW-40等を適宜組み合わせることにより高純度のSF-2240物質を得ることができる。

以下にSF-2240物質(遊離塩基)の理化学的性状を示す。

1. 外観 白色の無定形粉末
2. 融点 104℃～108℃

- 13 -

する。また、菌の発育を助け、SF-2240物質の生産を促進するような有機および無機物を適当に添加することができる。

培養法としては好氣的条件下での培養法、特に深部培養が最も適している。培養に適當な温度は25～40℃であるが、多くの場合28～35℃付近で培養する。

SF-2240物質の生産は培地や培養条件により異なるが、振盪培養、タンク培養ともに通常2～10日の間でその蓄積が最高に達する。

SF-2240物質の検定にあつては、次の方法が用いられる。検定用培地としてニュートリエント寒天を用いる。検定菌としてはプロテウス・ミラビリス(*Proteus mirabilis*)を用いる。

SF-2240物質はこれを用いた検定において500 mcg/ml～62.5 mcg/mlにおいて濃度の対数と阻止円径との関係は直線関係を示し、それぞれ2.34～14.2 mmの阻止円径を与える(ペーパードイスク平板法)。

本発明より得られるSF-2240物質は水溶性

- 12 -

3. 元素分析値 C: 53.13%, H: 6.15%, N: 16.26%, O: 24.75%

4. 紫外部吸収スペクトル(第1図)

水溶液中での極大吸収は243 nm( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 199$ ), 249 nm( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 202$ ), 260 nm(肩), 303 nm( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 76$ )である。

5. 赤外部吸収スペクトル

臭化カリウム錠中で測定したSF-2240のスペクトルは第2図に示したとおりである。

6. 分子量

質量分析(FD-MS)より分子量は591である。

7. 分子式

炭素核磁気共鳴スペクトル、質量分析元素分析値よりC<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>O<sub>9</sub>と推定される。

8. 水素核磁気共鳴スペクトル

重水中で測定した200 MHz, <sup>1</sup>H NMRのスペクトルは第3図に示したとおりである。

9. 炭素核磁気共鳴スペクトル

重水中で測定した50 MHz, <sup>13</sup>C NMR スペクトル

- 14 -

ルは第4図に示したとおりである。

## 10. 比旋光度

$$[\alpha]_D^{25} = +16.3^\circ (C=1, H_2O)$$

## 11. 溶解性

水、低級アルコールに可溶であるが、酢酸エチル、ベンゼン、ヘキサン等の有機溶媒に難溶である。

## 12. 呈色反応

陽性：レミュー、硫酸、ニンヒドリン、グレイターリーバック試薬

陰性：坂口試薬

## 13. 薄層クロマトグラフィーのRf値

シリカゲル(メルク, F <sub>254</sub> )	Rf
n-プロパノール-ピリジン-酢酸-水 (15:10:3:12)	0.75
n-ブタノール-メタノール-水 (4:1:2)	0.19
n-ブタノール-酢酸-水 (2:1:1)	0.29
セルロース(メルク, F <sub>254</sub> )	

- 15 -

n-ブタノール-メタノール-水

(4:1:2)

0.55

イソプロパノール-ブタノール-水

(7:7:6)

0.65

## 14. 高電圧紙電気泳動のRm

Rm(リジン) = 0.53 (pH 6.4 ピリジン-酢酸緩衝液, 3000 V, 15分間)

## 15. 酸分解物のアミノ酸分析

6規定塩酸110℃で18時間分解した後、アミノ酸分析に付したところセリンとグリシンが確認された。

## 16. 安定性

酸性において不安定であるが、中性からアルカリ性においては比較的安定である。

次にSF-2240物質の各種微生物に対する抗菌活性を第1表に示す。

- 16 -

第1表 SF-2240物質の抗菌スペクトル

ミューラーヒントニアガー (寒天希釈法)  
(Mueller Hinton agar)

被検菌	最小生育阻止濃度(mcg/ml)
スタフィロコッカス・アウレウス209P JC-1 ( <i>Staphylococcus aureus</i> )	> 400
スタフィロコッカス・アウレウス・スミス ( <i>S. aureus smith</i> )	50
バチルス・ズブチルスATCC 6633 ( <i>Bacillus subtilis</i> )	> 400
エシェリヒア・コリ-NIH JC-2 ( <i>Escherichia coli</i> )	> 400
プロテウス・ブルガリスOX-19 ( <i>Proteus vulgaris</i> )	50
プロテウス・モルガニー1510 ( <i>P. morganii</i> )	> 400
プロテウス・ミラビリスGN 79 ( <i>P. mirabilis</i> )	50
エルシニア・エンテロコリチカ 332 ( <i>Yersinia enterocolitica</i> )	50
シュードモナス・セパシアM-0527 ( <i>Pseudomonas cepacia</i> )	200
シュードモナス・エルギノーサIFO 3455 ( <i>Ps. aeruginosa</i> )	> 400

- 17 -

このようにしてSF-2240物質はグラム陽性菌、グラム陰性菌に対して弱い抗菌力を有している。また、本物質のマウスを用いた急性毒性試験において200mg/kg、静脈内投与群は4/4生存した。

以上の理化学的性状、生物学的性状を有するSF-2240物質は文献上これに該当するものがなく、新規物質と判定するに至った。

また、ミクロビスポーラ属に属する放線菌が抗生物質を生産することはほとんど知られておらず、わずかにイオディニン(Iodinine)(色素)が抗生物質として報告されている(The Japanese Journal of Antibiotics 30, S-174~S-189, 1977)。

以下に本発明の実施例を示すが、これらは単なる一例示であつて本発明を限定するものではない。ここに例示しなかつた多くの変法あるいは修飾手段を用い得ることはもちろんである。

## 実施例

## III) 培養

- 18 -

種培地としてスターチ2.0%, グルコース1.0%, 小麦胚芽0.6%, ペプトン0.5%, イーストエキス0.3%, 大豆粉0.2%, 炭酸カルシウム0.1%を含む培地を用いた。また、生産培地としてスターチ2.5%, 小麦胚芽3.0%, グルテンミール1.0%, 炭酸カルシウム0.5%を含む培地を用いた。なお、殺菌前pHは全て7.0に調節し、使用した。

イーストエキス・スターチ寒天スラントに充分生育したミクロビスポラ・エスピー SF-2240 株 (FERM P-6952) を前記種培地20mlずつを分注した100ml容三角フラスコ2本に6~7白金耳接種し、28℃で5日間培養し、第一種培養液とした。ついで、種培地80mlずつを分注した500ml容の三角フラスコ2本に、前記の第一種培養液4mlずつを接種し、28℃で3日間振盪培養し、これを第二種培養液とした。ついで、種培地500mlずつを分注した2ℓ容のカブフラスコ2本に、前記の第二種培養液25mlずつを接種し、28℃で2日間振盪培養し、これを第三種培

養液とした。

この第三種培養液を20ℓの殺菌槽の生産培地を含む30ℓ容のジャーファーマンター2基に接種し、28℃で6日間通気、攪拌培養した(回転数270rpm, 通気量20ℓ/min.)。

培養終了後、ケイソウ土を用いてろ過し、培養液23ℓを得た。

#### (2) SF-2240物質の採取

上記(1)で得た培養液23ℓをダイヤイオン HP-20 (三菱化成社製) 2ℓの塔に通し有効成分を吸着させた。10ℓの水で洗浄後、50%アセトン水で溶離すると、2ℓ分画でフラクション2と3に有効物質が溶離された。この活性面分を減圧下で濃縮してアセトンを除去した。

この濃縮液をアンバーライト IRC-50 (H+) (ロームアンドハース社製) 150mlの塔に通し有効成分を吸着させた。750mlの水で洗浄後、0.5規定アンモニア水で溶離すると、300ml分画でフラクション2~5にかけて有効物質が溶離された。この活性面分を減圧下で濃縮、凍結乾燥

してSF-2240物質の粗粉末が4.5g得られた。次に、この粗粉末4gをQM-セフアデックスC-25 (Na+) (ファルマシア社製) 150mlの塔に付し、600mlの水で洗浄後、0.05Mの塩化ナトリウム溶液で展開すると、20ml分画でフラクション28~78に活性面分が得られた。この活性面分を合し1ℓとし、これをアンバーライト CG-50 (H+) (ロームアンドハース社製) 100mlの塔に通し有効成分を吸着させた。0.1規定アンモニア水800mlで洗浄後、0.2規定アンモニア水で展開すると、20ml分画でフラクション36~48に活性面分が得られた。この活性面分を減圧下で濃縮、凍結乾燥すると、SF-2240物質の遊離塩基が980mg (純度約70%) 得られた。

#### (3) SF-2240物質の精製

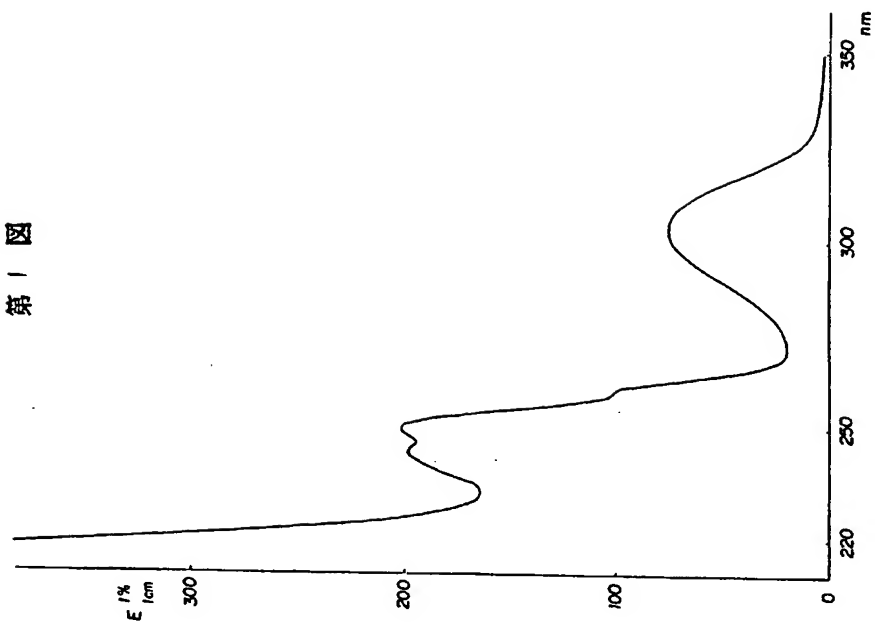
上記(2)で得たSF-2240物質980mgを2mlのメタノールに溶解させ、予めメタノールで充填したトヨパール HW-40 (東洋曹達工業社製) 700mlの塔に付し、メタノールで展開すると、

10ml分画でフラクション58~68にかけて活性面分が得られた。これを減圧下で濃縮乾固することによりSF-2240物質の高純度品が720mg (純度約90%) 得られた。次に、このSF-2240物質720mgを少量のメタノールに溶解させ、予めメタノールで充填したセフアデックス LH-20 (ファルマシア社製) 800mlの塔に付し、メタノールで展開すると、12ml分画でフラクション38~43に活性面分が得られ、これを合併し減圧下で濃縮乾固するとSF-2240物質の純品が620mg得られた(このものは薄層クロマトグラムで単一のスポットを示す)。

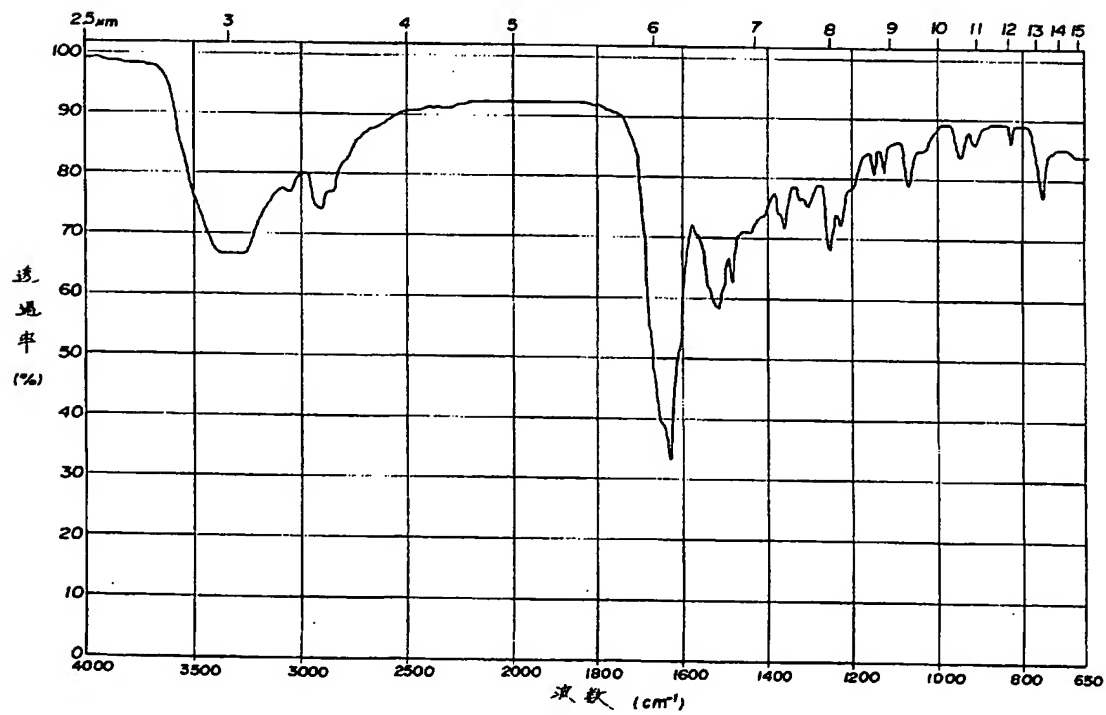
#### 4. 図面の簡単な説明

第1図はSF-2240物質の水溶液中での紫外部吸収スペクトルである。第2図はSF-2240物質の臭化カリウム錠中での赤外部吸収スペクトルである。第3図はSF-2240物質の重水中で測定した200MHz水素核磁気共鳴スペクトルである。第4図はSF-2240物質の重水中で測定した50MHz炭素核磁気共鳴スペクトルである。

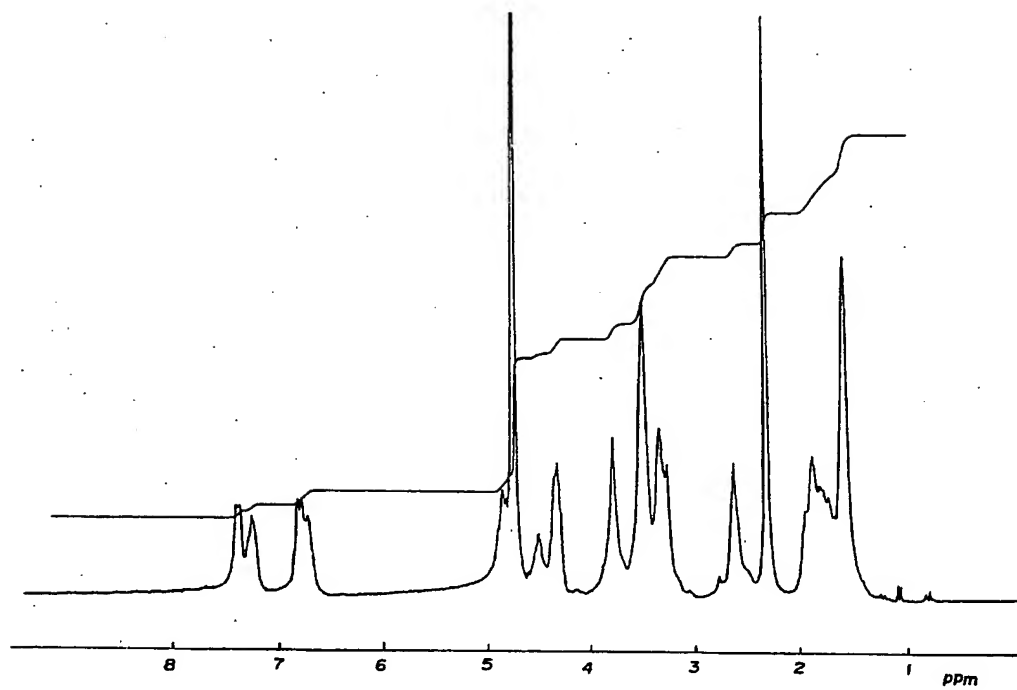
第 1 図



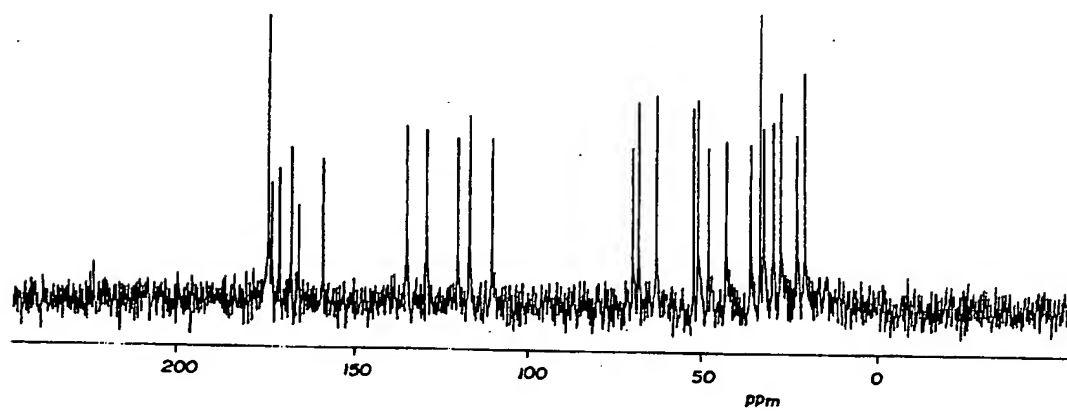
第 2 図



第 3 図



第 4 図





手続補正書（自発）

昭和58年10月31日

特許庁長官 若 杉 和 夫 殿

1. 事件の表示

特願昭58-73886

2. 発明の名称

新抗生物質SF-2240物質およびその製造法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

明治製菓株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407) 井堀七 久保田 藤 郎

電話(275)0721番



5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄および発明の詳細な説明の欄

6. 補正の内容

(1) 特許請求の範囲を別紙の通りに訂正する。

(2) 同第6頁下から第6行目の「円滑」を「平滑」

- 1 -

特許請求の範囲

1) 下記の特性を有する新抗生物質SF-2240物質およびその酸付加塩。

元素組成として重量比で炭素53.13%、水素6.15%、窒素16.26%、酸素24.75%を含み、質量分析(FD-MS)から分子量は591で、分子式は $C_{28}H_{37}N_7O_6$ であり、水溶液中での紫外部吸収スペクトルは第1図に示すように243nm、249nm、260nm(肩)、303nmに極大吸収を有し、第2図に示すような赤外部吸収スペクトルを示し、外観は白色粉末であり、水、メタノール、エタノールに可溶で、ベンゼン、酢酸エチル、ヘキサン等の有機溶媒に難溶であり、シリカゲル薄層クロマトグラムのR<sub>f</sub>値は展開溶媒n-ブタノール-ピリジン-酢酸-水(15:10:3:12)で0.75であり、n-ブタノール-メタノール-水(4:1:2)で0.19を示し、レミニュー、硫酸、ニンヒドリン、グレイク-リーバック試験は陽性、坂口反応は陰性であり、水溶液中での比旋光度が $[\alpha]_D^{20} = +16.3^\circ (C1)$

- 1 -

特開昭59-198982(9)

に訂正する。

(3) 同第8頁表の中オートミール寒天の項の発育(色は表面)の欄の「バステルネエロー」を「バステルイエロー」に訂正する。

(4) 同第14頁下から第7~6行目「質量分析元素分析値」を「質量分析、元素分析値」に訂正する。

(5) 同第17頁第1表の被検菌の欄中第11行目の「Proteus vulgaris」を「Proteus vulgaris」に訂正する。

(6) 同第17頁第1表の被検菌の欄中第17行目の「Yersinia enterocolitica」を「Yersinia enterocolitica」に訂正する。

(以上)

- 2 -

H<sub>2</sub>O)であり、pH6.4ピリジン-酢酸緩衝液を用いた高電圧薄層電気泳動(3000V、15分間)は陰極側に5.2cm泳動し、そのR<sub>m</sub>(リジン)は0.53で、塩基性の物質であり、第3図で実質的に代表される水素核核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、第4図で実質的に代表される炭素核核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、安定性は中性からアルカリ性にかけて比較的安定であるが、酸性では不安定な水溶性かつ塩基性である。

2) ミクロビスポーラ属に属し、下記の特性を有する新抗生物質SF-2240物質

元素組成として重量比で炭素53.13%、水素6.15%、窒素16.26%、酸素24.75%を含み、質量分析(FD-MS)から分子量は591で、分子式は $C_{28}H_{37}N_7O_6$ であり、水溶液中での紫外部吸収スペクトルは第1図に示すように243nm、249nm、260nm(肩)、303nmに極大吸収を有し、第2図に示すような赤外部吸収スペクトルを示し、外観は白色粉末であり、水、メタノール、エタノールに可溶で、ベンゼン、酢酸エチ

- 2 -

ル、ヘキサン等の有機溶媒に難溶であり、シリカゲル薄層クロマトグラムのRf値は展開溶媒 n-プロパノール-ピリジン-酢酸-水 (15:10:3:12) で0.75であり、n-ブタノール-メタノール-水 (4:1:2) で0.19を示し、レミュー、硫酸、ニンヒドリン、グレイク-リーバック試薬は陽性、坂口反応は陰性であり、水溶液中での比旋光度が  $[\alpha]_D^{20} = +16.3^\circ$  (0.1, H<sub>2</sub>O) であり、pH 6.4 ピリジン-酢酸緩衝液を用いた高電圧紙電気泳動 (3000V, 15分間) は陰極側に5.2cm泳動し、そのRm (リジン) は0.53で、塩基性の物質であり、第3図で実質的に代表される水素核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、第4図で実質的に代表される炭素核磁気共鳴吸収スペクトルを有し、安定性は中性からアルカリ性にかけて比較的安定であるが、酸性では不安定な水溶性かつ塩基性である。

を生産する能力を有する微生物を培養し、その培養物から上記 SF-2240 物質を採取することを特徴とする新抗生物質 SF-2240 物質の製造法。

3) ミクロビスポーラ属に属し、新抗生物質 SF-2240 物質を生産する能力を有する微生物がミクロビスポーラ・エスピー SF-2240 (FERM P-6952) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**